

# CD163 在肝癌术后肝衰竭患者中的表达及其与患者预后的关系

杨立学, 陈科济, 尉公田

第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外二科, 上海 200438

**摘要: 目的** 探讨原发性肝癌术后肝衰竭患者外周血单个核细胞(PBMCs)中 CD163 的阳性表达水平及其与患者预后的关系。**方法** 选择 2012 年 8 月至 2014 年 8 月行肝切除术治疗的 67 例原发性肝癌患者作为研究对象,根据术后有无肝衰竭分为肝衰竭组( $n=18$ )和无肝衰竭组( $n=49$ ),随访 6 个月根据发生肝衰竭患者的预后分为死亡组( $n=4$ )和存活组( $n=14$ );并选择同期健康体检者 80 例作为对照组。采用流式细胞术对两组对象 PBMCs 中 CD163 的阳性表达水平进行测定和比较。**结果** 肝衰竭组血小板计数、肝功能 Child-pugh 分级、术中出血量与无肝衰竭组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。PBMCs 中 CD163 阳性表达水平,在肝衰竭组患者 [ $(6.92 \pm 3.32)\%$ ]显著低于无肝衰竭组 [ $(12.78 \pm 6.53)\%$ ,  $P < 0.01$ ]和对照组 [ $(21.74 \pm 9.96)\%$ ,  $P < 0.01$ ];在肝衰竭晚期患者 [ $(3.38 \pm 1.52)\%$ ]显著低于早期 [ $(9.49 \pm 3.16)\%$ ,  $P < 0.01$ ]和中期患者 [ $(6.87 \pm 2.91)\%$ ,  $P < 0.05$ ];在发生肝衰竭者中 6 个月后死亡组 [ $(5.21 \pm 2.87)\%$ ]显著低于存活组 [ $(9.16 \pm 2.39)\%$ ,  $P < 0.05$ ]。CD163 评估肝衰竭患者预后的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.846(95% CI 0.747~0.945)。**结论** 肝癌术后肝衰竭患者 PBMCs 中 CD163 阳性表达水平显著降低,且与患者的病情程度及预后密切相关。

**关键词:** 原发性肝癌; 肝功能衰竭; CD163; 单个核细胞; 肝衰竭分期; 预后

**中图分类号:** R 735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)08-1050-04

## Expression of CD163 and its correlation with prognosis in hepatocellular carcinoma patients with postoperative liver failure

YANG Li-xue, CHEN Ke-ji, WEI Gong-tian

Department of Hepatobiliary Surgery, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital,  
the Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

**Abstract: Objective** To investigate the positive expression level of CD163 in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and its relationship with prognosis in hepatocellular carcinoma patients with postoperative liver failure. **Methods**

Sixty-seven patients with primary hepatic carcinoma treated by hepatectomy from August 2012 to August 2014 were selected as research objects. The patients were divided into liver failure group ( $n=18$ ) and non liver failure group ( $n=49$ ) according to with or without liver failure after operation. After a follow-up of six months, the liver failure patients were re-divided into death group ( $n=4$ ) and survival group ( $n=14$ ) according to the patients' prognosis. Eighty healthy subjects in the same period were selected as control group. Flow cytometry was used to detect and compare the CD163 positive expression level in PBMCs. **Results** There were significant differences in the platelet count, liver function Child-Pugh classification and intraoperative blood loss between liver failure group and non liver failure group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). The CD163 positive expression level in PBMCs in liver failure group [ $(6.92 \pm 3.32)\%$ ] was significantly lower than those in non liver failure group [ $(12.78 \pm 6.53)\%$ ,  $P < 0.01$ ] and control group [ $(21.74 \pm 9.96)\%$ ,  $P < 0.01$ ]. The CD163 positive expression level in PBMCs of patients with advanced stage liver failure [ $(3.38 \pm 1.52)\%$ ] was significantly lower than those in patients with early-term liver failure [ $(9.49 \pm 3.16)\%$ ,  $P < 0.01$ ] and mid-term [ $(6.87 \pm 2.91)\%$ ,  $P < 0.05$ ]. After six months, the CD163 positive expression level in PBMCs in death group [ $(5.21 \pm 2.87)\%$ ] was significantly lower than that in survival group [ $(9.16 \pm 2.39)\%$ ,  $P < 0.05$ ]. The area under the ROC curve (AUC) was 0.846(95% CI: 0.747-0.945) for evaluating the prognosis of liver failure patients by CD163. **Conclusion** The positive expression level of CD163 in PBMCs in hepatocellular carcinoma patients with postoperative liver failure significantly decreases, and it is closely corre-

lated with the degree of disease and prognosis.

**Key words:** Primary hepatic carcinoma; Liver function failure; CD163; Mononuclear cells; Liver failure classification; Prognosis

目前,在临床中肝切除术是治疗原发性肝癌的首选及最有效的一种处理方案,但是患者在术后容易出现肝功能衰竭,尤其是合并门静脉高压、肝硬化患者,肝功能衰竭发生率明显增加<sup>[1]</sup>。柳己海等<sup>[2]</sup>的研究显示,术中出血量、术前肝功能 Child-Pugh 分级及合并血管癌栓是肝癌患者肝切除术后肝功能衰竭的独立危险因素。临床研究显示,肝癌术后肝功能衰竭是患者死亡的一个重要因素,其病死率在 4.2% ~ 35% 之间<sup>[3]</sup>。随着医学技术水平的提升及对肝脏解剖认识的加深,在术前可对肝癌患者肝功能状况进行详细评估,但仍然缺乏有效手段最大程度减少术后肝功能衰竭的发生。目前部分学者认为肝功能衰竭发生与发展过程中,肠源性内毒素血症诱导的单核-巨噬细胞活化起到了重要促进作用,多项研究显示,作为一种仅表达在活化单核细胞和巨噬细胞系统细胞膜上的跨膜糖蛋白—CD163,其能够反映单核-巨噬细胞活化状态<sup>[4]</sup>。基于此,本研究分析原发性肝癌术后肝衰竭患者外周血单个核细胞 CD163 的表达水平及其与患者预后的关系,旨在为临床诊治提供参考依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择我院 2012 年 8 月至 2014 年 8 月行肝切除术治疗的原发性肝癌患者 67 例作为研究对象,均经术后病理报告证实,肝衰竭均符合肝衰竭诊治指南(2012 年版)中的诊断标准<sup>[5]</sup>。排除病例资料不完整、既往吸毒史、合并其他部位恶性肿瘤、入组前 6 个月内经免疫抑制剂治疗者。本研究经医院伦理委员会研究同意,并与患者及家属签署知情同意书。67 例患者中男 51 例,女 16 例;年龄 39 ~ 74 (56.7 ± 10.6) 岁;肝功能 Child-pugh 分级为 A 级 38 例, B 级 29 例;切除部位:肝尾状叶切除 17 例,中肝切除 24 例,右半肝切除 10 例,左半肝切除 16 例;术后发生肝衰竭 18 例,其中早期 6 例,中期 7 例,晚期 5 例;血清乙型肝炎病毒指标均为阳性。选取同时期本院健康体检者 80 例作为健康对照组,其中男 62 例,女 18 例;年龄 40 ~ 75 (55.2 ± 11.3) 岁。

**1.2 仪器与试剂** 美国 BD 公司生产的 FACSCanto II 型流式细胞仪, PECD163 抗体、APCCD14 抗体、CD163 抗体以及同位素标记参照抗体购于美国 Tian-gen 公司,无水乙醇、核酸染料、氯仿、红细胞裂解液、

PBS 缓冲液等均购自上海朗顿生物技术有限公司。

**1.3 检测方法** 采用流式细胞术对两组对象外周血单个核细胞表面 CD163 的表达水平进行测定,抽取两组对象外周血 10 ml,参照秦金环的方法提取外周血单个核细胞,取外周血样本 200 μl,于测试管中加入 APCCD14 抗体、PECD163 抗体,于对照管中加入同位素标记参照抗体,在室温下避光孵育 30 min,将标本分装到流式管中,每管为 100 μl 并进行标记,每管加入红细胞裂解液 100 μl、PBS 3 ml,然后以 1 200 r/min 离心 5 min,去掉上清液,重复离心 2 遍后每管中加入 PBS 重悬细胞 500 μl,通过流式细胞仪测定 CD163 表达水平。

**1.4 分组方法** 根据患者术后有无肝衰竭分为肝衰竭组和无肝衰竭组,根据肝衰竭组患者预后分为存活组和死亡组,患者住院期间死亡或出院后随访 6 个月内死亡归为死亡组。

**1.5 统计学处理** 所有数据均采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。计量资料应用  $\bar{x} \pm s$  表示,计量资料两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料比较采用  $\chi^2$  检验;采用受试者工作特征曲线 (ROC) 分析外周血单个核细胞 CD163 表达水平在预后判断中的敏感度和特异度。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 影响肝衰竭的一般临床因素** 原发性肝癌患者 67 例术后有肝衰竭 18 例,无肝衰竭 49 例。对影响其发生肝衰竭的一般临床因素的分析显示,肝衰竭组血小板计数、肝功能 Child-pugh 分级、术中出血量与无肝衰竭组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.01, *P* < 0.05); 两组患者性别、年龄、入肝血流阻断时间等比较差异无统计学意义 (*P* 均 > 0.05)。见表 1。

**2.2 原发性肝癌有无肝衰竭、肝衰竭不同期别患者和对照组外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平比较** 原发性肝癌有无肝衰竭组患者外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平均显著低于对照组 (*P* 均 < 0.01); 肝衰竭组患者外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平显著低于无肝衰竭组 (*P* < 0.01); 肝衰竭晚期患者外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平显著低于早期和中期患者 (*P* < 0.01, *P* < 0.05); 差异均有统计学意义。见表 2。

2.3 不同预后肝衰竭患者外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平比较 18 例肝衰竭患者中,随访至 6 个月时死亡 4 例,存活 14 例,其中死亡组外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平显著低于存活组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 肝衰竭组与无肝衰竭组患者临床资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	男/女 (例)	年龄 (岁)	血小板计数 ( $\times 10^9/L$ )	甲胎蛋白 (ng/L)	血清白蛋白 (g/L)	肝功能 A/ 有基础 B 级(例) 疾病(例)	术中出血量 (ml)	入肝血流阻断 时间(min)
肝衰竭组	18	15/3	58.7 ± 12.5	85.2 ± 13.8	369.3 ± 127.9	32.6 ± 10.7	6/12 3	1258.4 ± 166.1	13.3 ± 6.8
无肝衰竭组	49	36/13	54.3 ± 11.6	96.9 ± 15.1	363.8 ± 129.5	31.8 ± 11.4	32/17 4	974.8 ± 173.6	13.1 ± 7.9
$\chi^2/t$ 值		0.705	1.348	2.874	0.154	0.259	5.482 1.017	5.994	0.095
P 值		0.401	0.182	0.005	0.878	0.797	0.019 0.313	0.000	0.924

表 2 原发性肝癌有无肝衰竭、肝衰竭不同分期、不同预后患者和对照组外周血单个核细胞 CD163 表达水平比较

组别	例数	CD163 表达 (% , $\bar{x} \pm s$ )
无肝衰竭组	49	12.78 ± 6.53 <sup>ab</sup>
肝衰竭组	18	6.92 ± 3.32 <sup>b</sup>
肝衰竭组不同分期		
早期	6	9.49 ± 3.16 <sup>bce</sup>
中期	7	6.87 ± 2.91 <sup>bc</sup>
晚期	5	3.38 ± 1.52 <sup>b</sup>
肝衰竭组不同预后		
死亡	4	5.21 ± 2.87 <sup>d</sup>
存活	14	9.16 ± 2.39
对照组	80	21.74 ± 9.96 <sup>a</sup>

注:与肝衰竭组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与晚期比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ,<sup>d</sup> $P < 0.01$ ;与存活者比较,<sup>e</sup> $P < 0.05$ 。

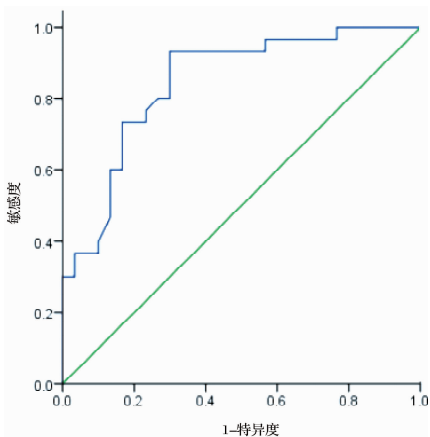


图 1 CD163 评估肝衰竭患者预后的 ROC 曲线图

### 3 讨论

目前,临床中对于肝癌多采取手术治疗,行肝切除术后患者肝衰竭的发生率在 5% ~ 40%。本研究中,肝衰竭组患者肝功能分级和术中出血量明显高于无肝衰竭组,而血小板计数低于无肝衰竭组,表明肝癌术后肝衰竭的发生与肝功能、术中出血量有一定关系。肝功能分级越高,提示患者肝硬化程度越严重,

2.4 外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平对肝衰竭患者预后评估的 ROC 曲线图分析 CD163 评估肝衰竭患者预后的曲线下面积(AUC)为 0.846(95% CI: 0.747 ~ 0.945), 敏感度为 73.3%, 特异度为 82.9%。见图 1。

极易发生低氧血症,再加上入肝血流阻断、手术本身创伤等因素,进一步加重了肝细胞缺氧状况;而在肝切除手术过程中,出血量增加会造成缺血性休克,肝脏缺血程度更加严重,导致肝细胞缺血再灌注损伤的发生,且术中失血过多可能会导致全身性炎症反应、细菌转移等,从而引起术后肝衰竭的发生。同时,多项研究指出,肝癌术后肝衰竭的发生与机体炎症、免疫应答有关<sup>[6-7]</sup>,而巨噬细胞所分泌的 CD163 等细胞因子在肝衰竭的发生与发展过程中起到了重要促进作用。

CD163 属于单链跨膜糖蛋白分子的一种,为富含半胱氨酸的清道夫受体超家族的一个重要成员,又被称为血红蛋白清道夫受体,目前仅在单核-巨噬细胞膜上被发现,能够特异性地识别血红蛋白和多聚阴离子。临床研究显示,在机体骨髓、淋巴结、脾脏、肝脏等巨噬细胞丰富的器官组织中呈高表达<sup>[8]</sup>,且成熟组织的巨噬细胞中 CD163 阳性表达水平显著高于外周血单个核细胞表达水平,表明 CD163 为巨噬细胞分化的一个标志。

肝衰竭患者体内免疫反应存在不同程度紊乱,患者免疫功能明显降低,加之手术本身的创伤以及多使用免疫抑制剂、广谱抗生素等药物,患者可能会出现术后继发感染,从而影响病情及预后。在上述过程中,患者体内巨噬细胞活性增强、内毒素血症以及致炎因子大量生成均会导致 CD163 出现异常变化。CD163 阳性表达受多种因素调节,如 IL-6、IL-10 等均可上调外周血单个核细胞表面 CD163 的阳性表达<sup>[9]</sup>。李珊珊等<sup>[10]</sup>的研究显示,HBV 相关慢加急性肝功能衰竭患者外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平显著降低,随着患者肝衰竭分期上升,CD163 阳性表达水平逐渐降低,且死亡组患者 CD163 阳性表达水平显著低于存活患者。在本研究中,外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平在肝衰竭组患者均显著

低于无肝衰竭组和健康对照组,且在肝衰竭晚期患者显著低于早期和中期患者,表明肝癌术后肝衰竭患者外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平显著降低,且与患者的病情程度密切相关,这与叶红等<sup>[11]</sup>研究结果基本一致。

肝衰竭病情复发凶险,病死率高,严重威胁着患者生命安全。既往研究证实,CD163 主要作用机制为对游离血红蛋白进行清除,减轻氧化损害程度;促进血红素氧合酶-1 活性提高,发挥抗氧化作用;激活细胞内的信号转导,发挥抗炎作用<sup>[12]</sup>。谷甸娜等<sup>[13]</sup>研究显示,急性肝衰竭大鼠模型肝组织中 CD163 阳性表达率显著高于对照组大鼠,且在一定程度上可减轻肝脏炎症的严重程度。袁淑芳等<sup>[14]</sup>的研究显示,急性肝衰竭大鼠经骨髓间充质干细胞治疗后肝组织中 CD163 阳性表达率和 IL-10 水平显著降低,提示 CD163 阳性表达率变化可反映急性肝衰竭临床治疗效果。秦金环<sup>[15]</sup>的研究指出,在慢加急性乙型肝炎肝衰竭患者中,死亡组外周血单个核细胞表面 CD163 阳性表达水平显著低于存活组,且与患者预后呈显著负相关。本研究中,死亡组外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平显著低于存活组,且经 ROC 分析得出,CD163 评估肝衰竭患者预后的 AUC 为 0.846 (95% CI 0.747 - 0.945), 敏感度为 73.3%, 特异度为 82.9%, 表明外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平对患者预后具有一定的评估价值,与上述研究结果一致。

综上所述,原发性肝癌术后肝衰竭患者的外周血单个核细胞 CD163 阳性表达水平显著降低,且与患者的病情程度及预后转归密切相关。

#### 参考文献

- [1] Onodera M, Inoue Y, Takikawa Y, et al. Clinical characteristics of liver failure from a systemic cause: A report from an advanced critical care center [J]. *Ann Hepatol*, 2016, 15(2): 254 - 259.
- [2] 柳己海, 郑小林, 郑直, 等. 原发性肝癌肝切除术后患者发生肝

功能衰竭的围术期危险因素分析 [J]. *中国全科医学*, 2013, 16(6B): 2036 - 2038.

- [3] 苏瑛, 龚绍. 肝癌伴胆管癌栓患者术后发生肝功能衰竭的影响因素研究 [J]. *实用癌症杂志*, 2014, 29(2): 233 - 236.
- [4] 李珊珊, 陈煜, 段钟平. CD163 与 sCD163: 肝衰竭评价的新指标 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2011, 27(10): 1112 - 1115.
- [5] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南 (2012 年版) [J]. *实用肝脏病杂志*, 2013, 16(3): 210 - 216.
- [6] 潘晶晶, 葛勇胜, 许戈良, 等. M2 型巨噬细胞在肝癌的表达意义及与 p-STAT3、STAT3 的关系 [J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(10): 1147 - 1151.
- [7] Mizuguchi T, Kawamoto M, Meguro M, et al. Serum antithrombin III level is well correlated with multiple indicators for assessment of liver function and diagnostic accuracy for predicting postoperative liver failure in hepatocellular carcinoma patients [J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(114): 551 - 557.
- [8] Massimino KP, Kolbeck KJ, Enestvedt CK, et al. Safety and efficacy of preoperative right portal vein embolization in patients at risk for postoperative liver failure following major right hepatectomy [J]. *HPB (Oxford)*, 2012, 14(1): 14 - 19.
- [9] 叶英楠, 龙欣欣, 于文文, 等. 肝细胞肝癌组织表达 IL-8 对肿瘤侵袭、转移的影响 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2014, 29(6): 522 - 526.
- [10] 李珊珊, 马春华, 李璐, 等. HBV 相关慢加急性肝功能衰竭患者外周血单核细胞 CD163 和 CD69 的表达及其与病情、预后的关系 [J]. *肝脏*, 2014, 19(1): 8 - 11.
- [11] 叶红, 迟增乔, 王凯. CD163 在乙肝后肝硬化患者中的表达及临床意义 [J]. *国际医药卫生导报*, 2015, 21(18): 2696 - 2699.
- [12] 彭契六. 肝癌微环境中 M2 型肿瘤相关巨噬细胞对肝癌转移功能的影响及其机制研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2015.
- [13] 谷甸娜, 陈永平, 卢明芹, 等. CD163 和血红素加氧酶 1 在急性肝衰竭大鼠模型中的表达 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2008, 16(12): 944 - 945.
- [14] 袁淑芳, 胡兰英, 姜涛, 等. 骨髓间充质干细胞移植肝衰竭大鼠 CD163 和白细胞介素 10 的表达 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(6): 919 - 925.
- [15] 秦金环. 慢加急性乙型肝炎肝衰竭患者中 CD163 和 sCD163 的临床表达研究 [J]. *中华临床医师杂志*, 2015, 9(16): 3033 - 3037.

收稿日期: 2016 - 03 - 16 修回日期: 2016 - 04 - 10 编辑: 王国品